

# 微波-酶法制备 RS<sub>3</sub> 型玉米抗性淀粉工艺参数优化研究

张华东 张森 沈晓萍 卢晓黎  
(四川大学食品工程系, 四川 成都 610065)

**摘 要:** 运用响应面法, 对微波-酶法制备 RS<sub>3</sub> 型玉米抗性淀粉的工艺参数进行优化。 $\alpha$ -淀粉酶酶解的优化工艺参数为: 液料比 4: 1, 酶解温度为 85 °C, 酶解时间 10 min, 酶浓度 1.68 U/g 淀粉; 微波糊化的优化工艺参数为: 功率 1.26 kW, 加热温度 92 °C, 加热时间 1 min; 普鲁兰酶脱支优化工艺参数为: 酶浓度 4.13 NPUN/g 淀粉, 酶解温度 53.31 °C, 酶解时间 3.26 h。按上述工艺参数制备的抗性淀粉得率为 13.45%。

**关键词:** 抗性淀粉; 微波-酶法; 响应面法; Box-Behnken 实验设计

抗性淀粉是指不被健康人体小肠吸收的淀粉及其分解物的总体, 它分为四类: RS<sub>1</sub> 物理包埋淀粉 (physically trapped starch)、RS<sub>2</sub> 抗性淀粉 (resistant starch granules)、RS<sub>3</sub> 回生淀粉 (retrograded starch)、RS<sub>4</sub> 化学改性 (chemical modified starch) 淀粉, 其中 RS<sub>3</sub> 可由淀粉回生产生, 是抗性淀粉中易于认为制备的一种。它具有防治肠道疾病、降脂、控制体重、促进矿物质吸收和某些维生素的体内合成等功能, 能防治现代生活容易出现的一些健康问题。因此对其生物功能和制备方法的研究越来越多。

本文以玉米淀粉为原料, 运用 SAS 软件和响应面法, 对微波-酶法制备玉米抗性淀粉的工艺参数进行了优化研究, 旨在为抗性淀粉的研究提供理论依据和技术方法参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

玉米淀粉 自备, 淀粉含量>95%, 蛋白质含量<0.08%, 脂肪含量<0.03%;  
耐高温  $\alpha$ -淀粉酶 (48000 U/mL); 普鲁兰酶 (1125 NPUN/mL) 诺维信公司

### 1.2 仪器设备

YQ2G-03 型微波加热机; LD4-2A 型离心机; TU-1800PC 型紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 工艺

淀粉分子链在一定长度下容易老化, 通过适量  $\alpha$ -淀粉酶酶解可以使淀粉分子的长度降低到一定程度, 并且可以降低物料的粘度。再经过微波加热糊化(同时也可让残留的淀粉酶失活), 使淀粉生成立体网状结构, 有利于普鲁兰酶对支链淀粉的作用, 产生更多支链淀粉, 从而提高抗性淀粉得率。据此设计的试验工艺为: 玉米淀粉制备 $\rightarrow$  $\alpha$ -淀粉酶酶解 $\rightarrow$ 微波加热糊化 $\rightarrow$ 普鲁兰酶脱支 $\rightarrow$ 回生 $\rightarrow$ 抗性淀粉含量测定。

#### 1.3.2 $\alpha$ -淀粉酶酶解工艺参数优化

影响淀粉酶酶解程度的因素有液料比、酶浓度、酶解温度和酶解时间, pH 值定为耐高温  $\alpha$ -淀粉酶的最佳作用 pH 值 (5.3)。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计 (见表 1)。其他工艺参数如下: 微波功率 0.9 kW, 作用温度 86 °C, 作用时间 5 min; 普鲁兰酶浓度 4 NPUN/g 淀粉, 酶解温度 55 °C, 酶解时间 3 h。

表 1  $\alpha$ -淀粉酶酶解工艺参数优化实验设计及结果

序号	B 液料比	E 酶浓度/(U/g 淀粉)	TE 酶解温度/°C	TI 酶解时间/min	RS 得率/%
1	4	1.68	90	20	12.09

2	4	3.60	90	20	9.59
3	6	1.68	90	20	9.10
4	6	3.60	90	20	4.62
5	5	2.64	85	10	8.21
6	5	2.64	85	30	6.08
7	5	2.64	95	10	7.10
8	5	2.64	95	30	5.75
9	4	2.64	90	10	9.01
10	4	2.64	90	30	8.81
11	6	2.64	90	10	6.63
12	6	2.64	90	30	6.01
13	5	1.68	85	20	10.23
14	5	1.68	95	20	10.18
15	5	3.60	85	20	5.44
16	5	3.60	95	20	4.95
17	4	2.64	85	20	8.43
18	4	2.64	95	20	7.90
19	6	2.64	85	20	6.55
20	6	2.64	95	20	5.92
21	5	1.68	90	10	11.56
22	5	1.68	90	30	11.41
23	5	3.60	90	10	5.06
24	5	3.60	90	30	5.48
25	5	2.64	90	20	6.41
26	5	2.64	90	20	5.64
27	5	2.64	90	20	5.72

### 1.3.3 微波糊化工艺参数优化

影响微波糊化效果的因素有微波功率、作用温度和作用时间。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计（见表 3）。其它工艺参数如下：普鲁兰酶浓度 4 NPUN/g 淀粉，酶解温度 55 ℃，酶解时间 3 h。

**表 3 微波糊化工艺参数优化实验设计及结果**

序号	P 功率/kW	TE 温度/℃	TI 时间/min	RS 得率/%
1	0.54	80	5	10.21
2	0.54	92	5	10.87
3	1.26	80	5	10.89
4	1.26	92	5	12.16
5	0.90	80	2	10.67
6	0.90	80	8	9.11
7	0.90	92	2	13.27
8	0.90	92	8	11.40
9	0.54	86	2	11.21
10	1.26	86	2	12.28
11	0.54	86	8	9.74

12	1.26	86	8	11.36
13	0.90	86	5	11.21
14	0.90	86	5	11.14
15	0.90	86	5	11.16

### 1.3.4 普鲁兰酶脱支工艺参数优化

影响普鲁兰酶脱支的因素有、普鲁兰酶浓度、酶解温度和酶解时间，pH 值定为普鲁兰酶最佳作用 pH 值（4.8）。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计（见表 5）。α -淀粉酶酶解和微波糊化工艺参数均采用其优化参数。

**表 5 普鲁兰酶脱支工艺参数优化实验设计及结果**

序号	E 酶浓度/（U/g 淀粉）	TE 酶解温度/℃	TI 酶解时间/min	RS 得率/%
1	2	45	3	12.34
2	2	65	3	11.61
3	6	45	3	12.05
4	6	65	3	11.32
5	4	45	1.5	11.89
6	4	45	4.5	12.25
7	4	65	1.5	11.80
8	4	65	4.5	11.91
9	2	55	1.5	11.89
10	6	55	1.5	11.18
11	2	55	4.5	11.43
12	6	55	4.5	12.85
13	4	55	3	13.38
14	4	55	3	13.42
15	4	55	3	13.42

### 1.3.5 抗性淀粉含量测定

采用高温 I.Goni 法。

## 2 结果分析

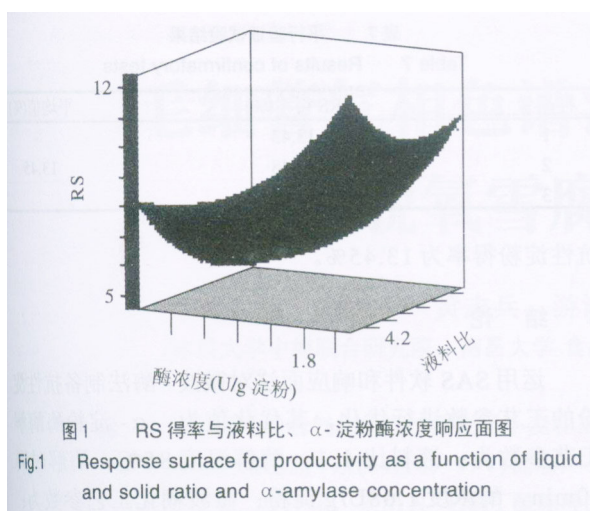
### 2.1 α -淀粉酶酶解工艺参数优化试验结果

用 α -淀粉酶酶解淀粉主要有两个作用，一是将淀粉分子链截成一定的长度，而是降低浆液粘度。淀粉分子链在一定长度下在最有利于淀粉的老化，而较低粘度有利于后续工序中普鲁兰酶的脱支作用。

**表 2 α -淀粉酶酶解工艺参数优化二次回归模型**

模型	非标准化系数	t	显著性检验
B	-0.18704	-5.99993	0.0001
E	-0.31384	-10.2161	0.0001
TE	-0.03887	-1.24682	0.236251
TI	-0.0471	-1.51087	0.156698
B×B	0.15521	3.319244	0.006119

B×E	-0.11156	-2.06605	0.061113
B×TE	-0.00905	-0.16758	0.869701
B×TI	-0.01893	-0.35065	0.73193
E×E	0.183674	3.927972	0.002006
E×TE	-0.02237	-0.41436	0.685923
E×TI	0.0232	0.429671	0.675049
TE×TE	0.031153	0.666228	0.517869
TE×TI	0.022363	0.414178	0.686051
TI×TI	0.089702	1.918318	0.07971
R <sup>2</sup>		93.44%	



分析表 2 可知，α-淀粉酶酶解对抗性淀粉得率的影响主要取决于液料比和酶浓度，酶解温度和酶解时间在试验所取范围内对抗性淀粉得率的影响较小，四个影响因素与抗性淀粉得率均呈反比。由图 1 可知最高点并非稳定点，且降低料液比和酶浓度可以进一步提高抗性淀粉得率。但是预试验时发现如果液料比小于 4：1，在微波加热时极易出现焦糊现象，而酶浓度如果小于 1.68 U/g 淀粉时，淀粉浆过于粘稠，普鲁兰酶很难同淀粉浆混合均匀，且难以作用。最终确定 α-淀粉酶酶解的优化工艺参数为：液料比 4：1，酶浓度 1.68 U/g 淀粉，酶解温度为 85 ℃，酶解时间 10 min。

经 SAS 软件优化的数学模型为：

$$RS=1.857808-0.18704B-0.31847E-0.03887TE-0.0471TI+0.155521BB-0.11156BE-0.00905BTE$$

## 2.2 微波糊化工艺参数优化试验结果

微波加热速度极快，使得物料中的水分在短时间迅速气化，并在内部积累形成压力梯度，产生膨化效应。同时膨化内动力是水蒸汽，在此过程中淀粉分子氢键断开，淀粉充分糊化，并产生多孔的网状结构。这些均有利于普鲁兰酶的脱支作用。

表 4 微波糊化工艺参数优化二次回归模型

模型	非标准化系数	t	显著性检验
P	0.62	3.444046	0.018355
TE	0.8525	4.735563	0.00517
TI	-0.765	-4.24951	0.008096
P×P	-0.01375	-0.05189	0.960626
P×TE	0.1525	0.599007	0.575272

P×TI	0.0625	0.245495	0.815832
TE×TE	-0.12375	-0.46701	0.660136
TE×TI	-0.0775	-0.30441	0.773075
TI×TI	0.06625	0.250016	0.812523
R <sup>2</sup>		91.40%	

分析表 4 可知，微波功率、加热温度和加热时间对抗性淀粉得率都有明显的影响，其中微波功率和加热温度同抗性淀粉得率成正比，加热时间同抗性淀粉得率成反比。微波糊化的优化工艺参数为：功率 1.26kW，加热温度 92 ℃，加热时间 1 min。

经 SAS 软件优化的数学模型为：

$$RS=11.132+0.62P+0.8525TE-0.765TI$$

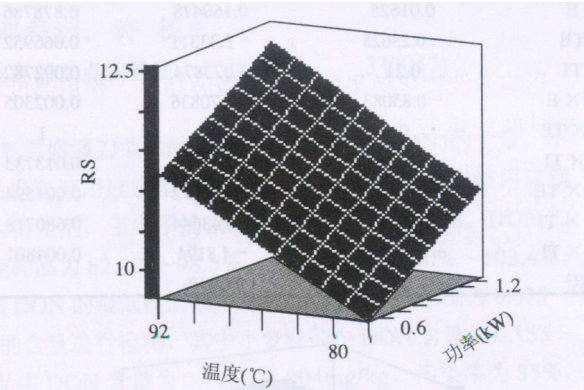


图2 RS得率与微波功率、加热温度响应面图  
Fig.2 Response surface for productivity as a function of

### 2.3 普鲁兰酶脱支工艺参数优化试验结果

淀粉中直连淀粉的比例越高，淀粉约易老化。普鲁兰酶可催化淀粉分子中α -1, 6-糖苷键的水解，使直链淀粉转变为直链淀粉，从而提高抗性淀粉得率。

分析表 6 可知，酶解温度和酶解时间对抗性淀粉得率影响较大，酶浓度对抗性淀粉得率影响较小，经 SAS 软件分析，此模型的最高点为稳定点（见图 3）。普鲁兰酶脱支优化工艺参数为：酶浓度 4.13 NPUN/g 淀粉，酶解温度 53.31 ℃，，酶解时间 3.26 h。

表 6 普鲁兰酶脱支工艺参数优化二次回归模型

模型	非标准化系数	t	显著性检验
E	0.01625	0.160478	0.878786
TE	-0.23625	-2.33311	0.066952
TI	0.21	2.073874	0.092782
E×E	-0.85083	-5.70836	0.002305
E×TE	0	0	1
E×TI	0.5325	3.718499	0.013733
TE×TE	-0.72583	-4.86972	0.004594
TE×TI	-0.0625	-0.43644	0.680718
TI×TI	-0.71833	-4.8094	0.004801
R <sup>2</sup>		94.89%	

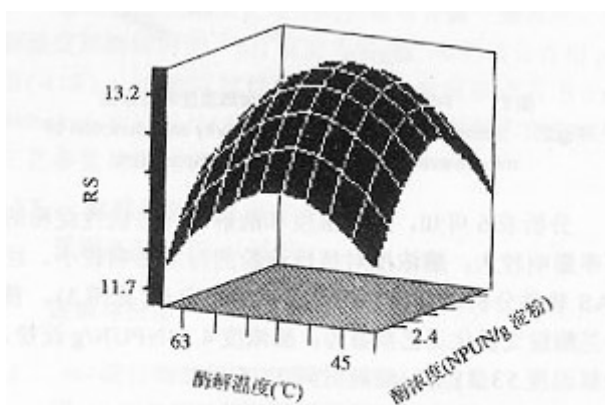


图3 RS得率与普鲁兰酶浓度、酶解温度响应面图

Fig.3 Response surface for productivity as a function of pullulanase concentration and processing temperature

经 SAS 软件优化的数学模型为：

$$RS=13.40333+0.01625E-0.23625T+0.21TI-0.85083+.EE05325ETI-0.72583TETE$$

按以上三部分优化的工艺参数做平行验证试验，分别测定抗性淀粉得率，并对其求平均值（见表 7）。抗性淀粉得率为 13.45%。

表 7 平行验证试验结果

样品号	RS 得率/%	平均值/%
1	13.43	13.45
2	13.48	
3	13.44	

### 3 结论

运用 SAS 软件和响应面法对微波-酶法制备抗性淀粉的工艺参数进行优化，其优化值为：α-淀粉酶酶解的优化工艺参数为：液料比 4：1，酶解温度为 85℃，酶解时间 10min，酶浓度 1.68 U/g 淀粉；微波糊化的优化工艺参数为：功率 1.26 kW，加热温度 92℃，加热时间 1 min；普鲁兰酶脱支优化工艺参数为：酶浓度 4.13 NPUN/g 淀粉，酶解温度 53.31℃，酶解时间 3.26 h。按上述工艺参数制备的抗性淀粉，其得率为 13.45%。

### 参考文献

- [1]GARCIA-DIZL.I.G. Analysis of resistant starch a method for foods and food product[J]. Food Chemidtry,1996,56:445~449.
- [2]APAR K D,ÖZBEK B. α-Amylase inactivation during corn starch hydrolysis process{J}. Process Biochemistry,2004,39:1877~1892.
- [3]李光磊，李新华. 小麦抗性淀粉的制备研究[J].粮油食品科技，2006（14）：31~33.
- [4]王洪燕，周惠明. 抗性淀粉的制备研究[J].粮油加工，2006（8）：85~87.

[5]郭春锋, 张守文. 抗性淀粉生理功能研究进展[J].粮油科技, 2006 (2): 1~3.